

Conservação de recursos genéticos animais através de biotécnicas de reprodução

Priscila de Melo Costa*

Carlos Frederico Martins**

Resumo

A conservação de recursos genéticos é uma alternativa para diminuir a perda contínua dos animais devido à degradação ambiental. O ápice da conservação exige estratégias *in situ* e *ex situ*, para que sejam mantidas as populações ainda existentes no meio ambiente. Devido às grandes dificuldades para implantação e manutenção de programas de conservação dos animais no seu *habitat* natural, a conservação *ex situ* tem ganhado destaque em razão de sua praticidade. Esta revisão teve como objetivo demonstrar a necessidade de se criarem estratégias para conservação da mastofauna em risco de extinção, especialmente por meio da utilização das biotécnicas de reprodução animal.

Palavras-chave: Criopreservação. Germoplasma. Preservação de mamíferos. Reprodução assistida.

1 Introdução

A extinção é um processo lento e natural que deve manter equilíbrio em relação ao número de especiações, mutações e modificações das frequências dos alelos que geram novas espécies. A exploração excessiva do meio ambiente desencadeia a diminuição da biodiversidade, uma vez que a taxa de extinção se torna maior que a especiação. A atual perda de espécies é algo sem precedentes e pode ser irreversível (PRIMACK; RODRIGUES, 2002).

A sobrevivência de uma espécie depende de populações mínimas viáveis (SHAFFER, 1981; SOULÉ, 1986; BRITO; FONSECA, 2006). Quando isso não é

* Departamento de Biologia, Faculdade de Ciências da Saúde, Centro Universitário de Brasília (UniCEUB), Brasília, DF, Brasil. E-mail: rnwpp@yahoo.com.br.

** Laboratório de Reprodução Animal, Embrapa Cerrados, Br 020, Km 18, Caixa Postal 08223, 73301-970, Planaltina, DF, Brasil. E-mail: carlos.frederico@cpac.embrapa.br.

possível naturalmente, o manejo das populações é necessário para que seja proporcionada a garantia mínima de variabilidade genética, bem como demográfica e ecológica, para sua manutenção e perpetuação (CULLEN JR. et al., 2003).

Devido à limitada disponibilidade de espaço em zoológicos, não é possível instalar um grande número de animais de uma mesma espécie naquele local. Dessa forma, o sucesso da criopreservação pode permitir a superação do tamanho limitado de reservas de animais silvestres e dos zoológicos, por meio da manutenção da diversidade genética em botijões criogênicos (WILSON, 1997). Os bancos de germoplasma podem manter, por um longo período, sementes, gametas, embriões e células somáticas em condições viáveis de uso. Aliados à programas de conservação, esses bancos de genes podem fornecer e receber material genético em potencial (TROUNSON et al., 1998). Assim, a criopreservação é um importante instrumento para a reprodução de animais silvestres e para a manutenção de sua diversidade genética. Segundo os geneticistas Thomas Foote e Ulysses Seal, é possível manter 95% da variabilidade genética durante cerca de 400 anos, ou 50 gerações, quando se tem um manejo adequado do material genético (WILSON, 1997).

Ainda, na reprodução de espécies em cativeiro, é viável empregar técnicas de reprodução assistida para auxiliar no aumento do número de indivíduos, que poderão ser encaminhados para programas de reintrodução ou acréscimo de espécimes ao meio ambiente (FOOSE; WIESE, 2006). Dentre essas técnicas, as mais importantes são a transferência de embriões e a inseminação artificial (PRIMACK; RODRIGUES, 2002). No entanto, a conservação e restauração da fauna silvestre devem acontecer concomitantemente com a conservação e restauração do *habitat* natural, para que a fauna em risco consiga obter seus recursos e assegurar sua sobrevivência (CULLEN JR et al., 2003).

Frente à crescente degradação ambiental devido à exploração humana descontrolada, este artigo de revisão pretende discutir e demonstrar a necessidade de criarem-se estratégias para conservação da mastofauna em risco de extinção, especialmente por meio das biotécnicas de reprodução animal.

2 Situação atual da preservação de mamíferos no Brasil

A União Mundial para a Conservação (IUCN) é a responsável pelo estabelecimento de categorias de conservação de espécies. Com o propósito de preservar as espécies tidas como ameaçadas (criticamente em perigo, em perigo e vulnerável), essa classificação auxilia na identificação de espécies que necessitam de maior atenção conservacionista. Isso permite a promoção de acordos, como a Convenção Internacional de Espécies Ameaçadas (CITES), e, também, outras medidas em prol da conservação da fauna e da flora (PRIMACK; RODRIGUES, 2002).

Com base nessas categorias, a IUCN preparou várias listas vermelhas de espécies ameaçadas de extinção, em diferenciados táxons, nas quais estão incluídos animais e plantas de todo o planeta (IUCN, 2006).

No Brasil, o Ministério do Meio Ambiente (MMA) e o Instituto Brasileiro do Meio Ambiente e dos Recursos Naturais Renováveis (IBAMA), contando com a parceria da Fundação Biodiversitas para a Conservação da Diversidade Biológica, da Sociedade Brasileira de Zoologia e da “*Conservation International*”, elaboraram a lista nacional das espécies da fauna brasileira ameaçadas de extinção. Essa lista serve como referência tanto para programas de recuperação de espécies ameaçadas, prováveis implantações de unidades de conservação auxiliares em medidas atenuantes de impactos ambientais, quanto para pesquisadores e para a aplicação da Lei de Crimes Ambientais (MMA, 2006).

Na lista nacional das espécies da fauna brasileira ameaçadas de extinção do Ministério do Meio Ambiente, a classe Mammalia apresenta 23 famílias com 70 espécies, em diferenciadas categorias (Tabela 1).

3 Degradação ambiental e a necessidade de conservação de recursos genéticos animais

A degradação ambiental é a principal causa da diminuição da quantidade de indivíduos e da diversidade biológica (LOSKUTOFF, 1998).

O crescimento da população humana interfere de modo devastador nos ecossistemas, uma vez que essa população explora, cada vez mais, o meio ambiente de forma não sustentável, prejudicando os *habitats* e as populações que neles vivem (WILDT et al., 1997; BALMFORD; BOND, 2005; GALVANI, 2007; PIMENTEL et al., 2007).

Além disso, a introdução de espécies exóticas invasoras apresenta, também, um grande potencial de devastação do meio em que são introduzidas (HOFFMEISTER et al., 2005). Esse processo pode ser considerado como o segundo maior fator de devastação ambiental, ficando atrás, somente, da exploração humana direta por destruição de *habitats* (ZILLER; ROSA 2001). Uma vez que uma espécie exótica é inserida em um *habitat*, ela pode ocupar o nicho de indivíduos nativos da região, gerando competição por recursos, limitando-os e fazendo com que essas espécies se desloquem. Havendo a modificação do *habitat* ou o estabelecimento de uma relação de predação de indivíduos nativos, estes podem ser levados à extinção pelas espécies animais introduzidas (HOFFMEISTER et al., 2005).

Fatores culturais e econômicos podem estar ligados, diretamente, à introdução de espécies exóticas, tendo em vista sua utilização no setor agropecuário – plantas ornamentais ou medicinais, forragem ou madeira, gado doméstico, animais de estimação, agentes de controle biológico e outros (WILSON, 1997).

Tabela 1 - Número de mamíferos listados em diferentes categorias de conservação.

Ordem	Família	Criticamente	Em perigo	Vulnerável
Artiodactyla	Cervidae	0	0	2
Carnívora	Canidae	0	0	2
Carnívora	Felidae	0	0	7
Carnívora	Mustelidae	0	0	1
Cetácea	Balaenidae	0	1	0
Cetácea	Balenopteridae	1	1	2
Cetácea	Physeteridae	0	0	1
Cetácea	Pontoporidae	0	1	0
Chiroptera	Phyllostomidae	0	0	3
Chiroptera	Vespertilionidae	0	0	2
Didelphimorphia	Didelphidae	1	0	0
Primates	Atelidae	3	2	1
Primates	Callitrichidae	3	3	1
Primates	Cebidae	2	0	2
Primates	Pitheciidae	2	1	6
Rodentia	Echimyidae	2	2	1
Rodentia	Erethizontidae	0	0	1
Rodentia	Muridae	3	0	2
Rodentia	Octodontidae	0	0	1
Sirenia	Trichechidae	1	0	1
Xenarthra	Bradypodidae	0	0	1
Xenarthra	Dasypodidae	0	0	2
Xenarthra	Myrmecophagidae	0	0	1

Fonte: Ministério do Meio Ambiente (MMA), 2006.

A destruição contínua de uma extensa área pode gerar além da diminuição, sua divisão em um ou mais fragmentos, gerando um fator denominado de fragmentação de *habitats*. Essa fragmentação pode desencadear vários efeitos maléficos ao meio ambiente, tais como o aumento dos efeitos de borda (ação principalmente do aumento de temperatura, luz, umidade, vento, populações humanas da região, espécies invasoras etc.), a limitação da dispersão e da colonização. Pode, ainda, deixar as espécies suscetíveis à depressão endogâmica, o que desencadeará proles com uma menor variedade genética (PRIMACK; RODRIGUES, 2002).

Atualmente, a poluição é uma das formas mais sutis de degradação ambiental. Ela interfere na qualidade da água, do ar e até mesmo do clima global. Devido à comum utilização de pesticidas, esgotos domésticos e industriais, liberação de gases tóxicos de fábricas e de automóveis, a poluição prejudica a diversidade biológica e, até mesmo, a saúde humana (TILMAN et al., 2001; PIMENTEL et al., 2007).

Dessa forma, a degradação ambiental desencadeia o declínio e a extinção de muitas espécies existentes no planeta (PURVIS et al., 2000; PRIMACK; RODRIGUES, 2002). Medidas emergenciais devem ser tomadas para evitar o agravamento desse quadro crítico. A conservação *in situ* é sem dúvida a melhor forma de conservar a fauna e a flora. Porém, a sua idealização depende de fatores que são trabalhados em longo prazo, como a educação ambiental (WILSON, 1997).

A conservação *ex situ* por meio dos bancos de germoplasma, aparece como alternativa imediata de conservação de material genético em potencial (WILSON, 1997; HIEMSTRA et al., 2005). Os bancos podem ser abastecidos de germoplasma de populações com pequeno ou com um grande número de indivíduos (permitindo a variabilidade). Esse material poderá ser usado posteriormente, para auxiliar no aumento populacional se necessário. Quando a população está em pequeno número, para aumentar sua variabilidade genética, podem ser utilizados germoplasmas de indivíduos de outras regiões (WILSON, 1997). Em casos extremos, há, ainda, a possibilidade do uso das células somáticas para multiplicação de indivíduos pelo processo de clonagem (TROUNSON, 1998; RYDER, 2002).

Assim, a conservação deve ser realizada não só pelo direito que os animais têm de existir, mas, também, pelas aplicações possíveis em atividades humanitárias. Espécies de plantas e animais que poderiam ser úteis no futuro estão sendo perdidas antes que seja comprovada tal serventia para os seres humanos (WILSON, 1997). Dessa forma, ações para sua conservação merecem esforços.

4 Conservação animal *in situ* e *ex situ*

A manutenção da fauna e da flora em seu habitat natural é denominada de conservação *in situ*. Essa é, incontestavelmente, a melhor estratégia para a preservação da diversidade biológica, pelo fato de permitir a continuação dos processos evolucionários naturais. Existem várias espécies que ainda não foram nomeadas nem descritas em várias partes do mundo, inclusive no Brasil. Somente a conservação *in situ* permitirá que se conheça mais dessas espécies para que seja possível desenvolver estratégias de conservação para elas (PRIMACK; RODRIGUES, 2002).

A conservação *in situ* pode-se apresentar ineficiente em casos de populações reduzidas ou quando a maioria de indivíduos remanescentes está localizada em áreas desprotegidas. Existem grupos animais que possuem um menor número de espécies e, além disso, para garantir sua sobrevivência, necessitam de espaço – por exemplo, grandes vertebrados. Sendo assim, é provável que as estratégias de conservação *ex situ* sejam a única alternativa para evitar a extinção desses animais (PRIMACK; RODRIGUES, 2002).

A conservação *ex situ* diz respeito a estratégias de conservação que são efetuadas fora dos ambientes naturais (SANTOS, 2000). Para os animais, a conservação *ex situ* inclui bancos de germoplasma, zoológicos, criações em cativeiro, fazendas com criação de caça e aquários (PRIMACK; RODRIGUES, 2002).

A conservação *in situ* e *ex situ*, quando integradas, complementam uma à outra, de forma que, quando aliados a programas de reintrodução, indivíduos de populações *ex situ* podem ser soltos em seu habitat natural, para auxiliar a conservação *in situ* (NIJMAN, 2006). Há, também, a possibilidade de se desenvolver pesquisa da biologia de indivíduos vivos em cativeiro, para criação de novas idéias sobre as estratégias de conservação *in situ*. Populações *ex situ* que se reproduzem sem maiores dificulda-

des possibilitam que se evite a retirada de indivíduos selvagens de seu *habitat* para a pesquisa ou para serem colocados como vitrine. Quando estão à mostra, esses animais em cativeiro podem ser um instrumento de conscientização sobre a importância da conservação de espécies *in situ* e *ex situ* (PRIMACK; RODRIGUES, 2002).

5 Conservação animal *ex situ* e a importância da biotécnica de reprodução

5.1 Zoológicos e Criações de animais silvestres em cativeiro

Os zoológicos, além de atuar na conservação de espécies em cativeiro, possuem um importante papel na educação ambiental, pois aumentam o interesse do público em espécies silvestres, por possibilitar que elas sejam observadas e que o público desenvolva o conhecimento a respeito delas. Os zoológicos e criadouros de animais silvestres têm sua importância ao possibilitar estudos básicos do comportamento animal. Estes permitem a progressão de técnicas de manejo e servem como recurso emergencial para espécies que não apresentam possibilidade de sobrevivência em seu *habitat*, atuando como reservatórios genéticos e demográficos. Além disso, os criadouros podem ser uma alternativa de produção de alimento e de diminuição na pressão da caça (BDT, 2006).

O objetivo central dos grandes jardins zoológicos é a criação de populações e espécies raras e ameaçadas. Entretanto, das 274 espécies raras de mamíferos mantidas em zoológicos, somente 10% possuem populações auto-sustentáveis e que conseguem manter sua variabilidade genética de tamanho suficiente a evitar a depressão endogâmica (PRIMACK; RODRIGUES, 2002).

A indisponibilidade de espaço físico, na maioria das vezes, é uma problemática para os zoológicos e criadouros, pois impossibilita a manutenção de uma grande quantidade de indivíduos de uma mesma espécie, o que leva à depressão endogâmica. Além disso, locais assim são inapropriados para animais que necessitam de uma grande quantidade de espaço para sobreviver (WILSON, 1997). Para diminuir esse problema, existem projetos como o do zoológico de San Diego, o *Frozen Zoo*, no qual se criopreservam células viáveis para multiplicação de muitas espécies em espaços diminutos (CRES, 2006).

Para a manutenção da variabilidade genética e o aumento da taxa de reprodução em cativeiro, faz-se necessário o emprego de várias biotécnicas que vêm sendo desenvolvidas, tais como criopreservação de gametas, inseminação artificial, transferência de embriões e outras. O material genético coletado na natureza pode ser empregado, por meio dessas biotécnicas, para aumentar a variabilidade genética de populações em cativeiro, sem desfaltar as populações selvagens (WILSON, 1997).

6 Bancos de germoplasma

A criopreservação de germoplasma é uma alternativa que diminui as limitações impostas pelo tempo e pela distância para a conservação de diversas espécies silvestres em risco de extinção (LOSKUTOFF, 1998). Com a criopreservação de germoplasma em botijões de nitrogênio líquido a $-196\text{ }^{\circ}\text{C}$, o material biológico mantém quase as mesmas características após o descongelamento (SANTOS, 2000).

Bancos de germoplasma, preferencialmente, devem conter material genético com variabilidade relativamente grande, para que as populações em que esses germoplasmas serão usados não sofram limitações genéticas (TROUNSON, 1998).

Existem bancos de germoplasma em vários zoológicos, universidades, organizações de animais de criação, instituições de pesquisa e laboratórios de vida silvestre. Todavia, eles são, geralmente, pouco utilizados, por conta das instalações normalmente rudimentares (TROUNSON, 1998).

O congelamento de gametas, embriões e células somáticas possibilitam o emprego desses germoplasmas em técnicas de reprodução assistida, por exemplo, a transferência de embriões e a inseminação artificial, que permitiriam o aumento de populações *ex situ* e *in situ* (WILSON, 1997).

7 Criopreservação de sêmen

Há a estimativa de que embriões e espermatozoides criopreservados em nitrogênio líquido a $-196\text{ }^{\circ}\text{C}$ podem resistir até 3.000 anos em condições viáveis. Entretanto,

a relativa infância da reprodução assistida permite comprovar, com fatos, pouco menos de 50 anos de sobrevivência dos espermatozoides em botijões criogênicos (LOSKUTOFF, 1998).

A criopreservação do sêmen é a principal técnica voltada à conservação animal *ex situ*. O sêmen pode ser coletado por meio, principalmente, das técnicas de eletroejaculação, massagem retal e vagina artificial (TROUNSON, 1998). Os crioprotetores empregados para animais de produção têm como base o glicerol e a gema de ovo, que, geralmente, vêm sendo usados, de forma efetiva, para espécies silvestres, tais como impala, girafa, búfalo e outros. No entanto, outros crioprotetores internos podem ser utilizados, entre os quais, etilenoglicol, propilenoglicol e dimetil sulfoxido (LOSKUTOFF, 1998).

Também estão sendo desenvolvidas técnicas extremamente interessantes para a conservação da biodiversidade, tais como a recuperação de espermatozoides do epidídimo de animais mortos, e esses gametas são capazes de resistir após diferentes períodos de tempo, quando resfriados, até ser, posteriormente, criopreservados (MARTINS et al., 2007).

A criopreservação de espermatozoides do epidídimo é uma importante biotécnica com aplicação na reprodução assistida e na conservação animal. Essa técnica tem sido usada em diferentes espécies: humanos (OATES et al., 1996); bovinos (MARTINS et al., 2007); suínos (KOLBE; HOLTZ, 1999); javalis (KIKUCHI et al., 1998); ratos (KISHIKAWA et al., 1999); gatos (BOGLIOLO et al., 2001); cervos (MARTINEZ-PASTOR et al., 2005a); gazelas (SARAGUSTY et al., 2006); macacos (SANKAI et al., 2000); e outros. A forma mais comum de obtenção de espermatozoides do epidídimo de animais mortos é a retirada dos testículos e seu resfriamento antes da extração dos espermatozoides. Para extração, os espermatozoides da cauda do epidídimo e da região proximal do ducto deferente podem ser isolados de duas formas: 1) fluxo gerado pela injeção de meio de congelação no canal deferente em direção ao epidídimo; 2) cortes na região do corpo do epidídimo ou dissecação, seguida de cortes e pressão manual na região da cauda do epidídimo (KOLBE; HOLTZ, 1999; HEWITT et al., 2001; MARTINEZ-PASTOR et al., 2005b; MARTINS et al., 2007).

Os bancos de germoplasma apresentam muitas dificuldades no abastecimento de gametas, principalmente de animais silvestres, uma vez que uma série de

fatores interfere na obtenção dos mesmos. Nesse caso, os espermatozóides recuperados da cauda do epidídimo após a morte do animal podem ser uma excelente fonte de aquisição de gametas masculinos. Esse germoplasma pode ser utilizado para a restauração de populações (MARTINEZ-PASTOR et al., 2005c).

A caça esportiva é um problema para espécies silvestres, uma vez que causa a diminuição do número de indivíduos das populações e, concomitantemente, da variabilidade genética. Na Espanha, por exemplo, existem propriedades privadas que permitem a caça desde que seja de forma controlada. Esses locais podem servir como fonte de espermatozóides do epidídimo dos animais caçados, por exemplo, o *Cervus Elaphus Hispanicus* (MARTINEZ-PASTOR et al., 2005a).

Tem sido relatado, ainda, que mamíferos de pequeno porte podem ter seus corpos armazenados, resfriados por completo para a conservação espermática. Nesse caso, cadáveres de ratos mantidos no refrigerador a 4 °C por dez dias após a morte, tiveram 30% de seus espermatozóides viáveis. Eles tiveram habilidade limitada na fecundação *in vitro* (FIV); porém, na injeção intracitoplasmática de espermatozóide (ICSI), 80% das fertilizações tiveram êxito (KISHIKAWA et al., 1999).

As pesquisas com animais domésticos estão bem à frente, quando comparadas às de animais silvestres, que vêm ganhando maior atenção dos cientistas atualmente. Apesar de muitas etapas dos protocolos serem extremamente semelhantes, nem sempre os de animais domésticos são apropriados para animais silvestres. Para que haja otimização, faz-se necessário um estudo mais específico dos protocolos desses animais silvestres (MARTINEZ-PASTOR et al., 2005b).

Vários lugares do mundo, Japão (SANKAI et al., 2000), Espanha (MARTINEZ-PASTOR et al., 2005b), Jerusalém (SARAGUSTY et al., 2006) e outros, possuem pesquisas sobre a recuperação de espermatozóides do epidídimo de animais silvestres mortos. No Brasil, apesar de não haver pesquisas com animais silvestres, no que diz respeito à utilização de espermatozóides do epidídimo, realizam-se experimentos em animais de produção, tais como bovinos (COSTA et al., 2005; MARTINS et al., 2007). Para facilitar futuras pesquisas com a fauna silvestre brasileira, pode-se tomar como referência a aplicação da técnica em indivíduos de um mesmo táxon, independentemente

de sua localização geográfica. A comparação é possível em razão de indivíduos do mesmo táxon tenderem a ter características morfológicas, genéticas e ecológicas semelhantes (HICKMAN Jr et al., 2004).

8 Criopreservação de ovócitos e embriões

Nos últimos 10 anos, tem-se obtido considerável progresso com a criopreservação de ovócitos. Ovócitos viáveis podem ser recuperados de um grande número de espécies após a congelação e descongelação. Recentemente, tanto ovócitos imaturos quanto maduros têm sido criopreservados com protocolos ultra-rápidos (SATACHECKI; COHEN, 2004). O nascimento de animais provenientes de embriões produzidos de ovócitos criopreservados já foi registrado em bovinos (OTTOI et al., 1996), camundongos (STACHECKI et al., 2002), ratos (NAKAGATA, 1992), eqüinos (MACLELLAN et al., 2002) e humanos (SATACHECKI; COHEN, 2004). A eficiência do uso de ovócitos criopreservados e descongelados ainda é muito baixa, quando comparada com embriões criopreservados. Ovócitos de felinos domésticos, por exemplo, podem ser maturados *in vitro* (MIV) e, posteriormente, fecundados. Entretanto, quando esses não são criopreservados, há uma menor redução da taxa de desenvolvimento (alterações nucleares e citoplasmáticas). Em relação aos embriões, independentemente do tempo de criopreservação dos embriões, que, normalmente, estão em fase de blastocisto, o desenvolvimento *in vitro* deles não é afetado (GOMES et al., 2003). A criopreservação de embriões tem sido conseguida com sucesso em um grande número de mamíferos domésticos, empregando-se um único crioprotetor, com resfriamento lento. Ultimamente, o processo de vitrificação tem surgido como alternativa para criopreservação de ovócitos e embriões de animais silvestres, devido à necessidade de poucos equipamentos e à aplicação a campo. A vitrificação envolve a transição direta da fase líquida para a sólida, sem a formação dos cristais de gelo que danificam a célula. No entanto, é necessário avançar nessa tecnologia em relação às espécies silvestres, uma vez que ainda existem poucos trabalhos nessa área (PUKAZENTHI et al., 2006).

9 Criopreservação de Células somáticas para a transferência nuclear

As células somáticas podem ser acondicionadas em bancos de germoplasma, tendo, posteriormente, seu núcleo transferido para efetivação da clonagem. Essa técnica é bastante importante para animais de produção, com resistência a doenças raras (TROUNSON, 1998).

Em casos de populações extremamente reduzidas, como uma atitude emergencial, é possível o uso das células somáticas para um aumento da prole. Porém, as células somáticas não permitem um aumento da variabilidade genética (TROUNSON, 1998), o que levaria os indivíduos da população a uma limitação de habilidades. As características genéticas de alelos raros e de combinações incomuns podem não ser úteis no momento, mas podem vir a ser em situações adversas de longo prazo, como: novas doenças, mudanças climáticas globais, poluição e outros. A falta de variabilidade genética pode levar os indivíduos à extinção (PRIMACK; RODRIGUES, 2002).

10 Considerações finais

A conservação *ex situ* vem-se tornando uma das principais opções para resgatar o germoplasma de pequenas populações, principalmente devido ao avanço das biotécnicas de reprodução e ao fato da conservação *in situ* necessitar de grandes áreas para manter os animais. O uso dessas técnicas deve-se intensificar, especialmente para animais silvestres. No entanto, a conservação *ex-situ* deve ser conduzida juntamente com esforços de conservação *in situ*.

Animal genetic resources conservation with use of the reproduction biotechniques

Abstract

The genetic resources conservation is an alternative to decrease the continuous loss of the animals due to environmental degradation. The apex of conservation demands *in situ* and *ex situ* strategies, for the populations' present in the environment are still maintained. Due to the great difficulties of the implementation and maintenance of animals conservation programs into the natural habitat, the *ex*

situ conservation is in evidence due to it practically. This review had as objective to demonstrate the need to create strategies for conservation of the mastofauna in risk of extinction, especially through the use of the animal reproduction biotechniques.

Keywords: Assisted reproduction. Cryopreservation. Germoplasm. Mammalian preservation.

Referências

BALMFORD, A.; BOND, W. Trends in the state of nature and their implications for human well-being. **Ecology Letters**, [S.l.], v. 8, p. 1218-1234, 2005.

BDT. **Estratégia Nacional de Diversidade Biológica**. Disponível em: <<http://www.bdt.fat.org.br/publicacoes/politica/gtt/gtt3>>. Acesso em: 05 maio 2006.

BRITO, D.; FONSECA, G.A.B. Evaluation of minimum viable population size and conservation status of the long-furred woolly mouse opossum *Micoureus paraguayanus*: an endemic marsupial of the Atlantic Forest. **Biodiversity and Conservation**, [S.l.], v. 15, p. 1713–1728, 2006.

BOGLIOLO, L. et al. Intracytoplasmic sperm injection of in vitro matured oocytes of domestic cats with frozen-thawed epididymal spermatozoa. **Theriogenology**, [S.l.], v. 56, p. 955-967, 2001.

COSTA, P. M. et al. Avaliação do potencial de criopreservação de espermatozoides imaturos do epidídimo de animais mortos. In: SIMPOSIO DE RECURSOS GENÉTICOS PARA AMÉRICA LATINA Y EL CARIBE. 5., 2005. **Resúmenes**. Uruguai: Instituto Nacional de Investigación Agropecuaria, Faculdade de agronomia Universidade de La Republica, Comité Nacional sobre Recursos Fitogenéticos, 2005. p. 107.

CRES. **CRES projects**: the frozen zoo. Disponível em: <http://www.cres.sandiegozoo.org/projects/gr_frozen_zoo.html>. Acesso em: 23 maio 2006.

CULLEN JR, L. et al. **Métodos de estudo em biologia da conservação e manejo silvestre**. Paraná: Universidade Federal do Paraná, 2003. 667 p.

FOOSE, T. J.; WIESE, R. J. Population management of rhinoceros in captivity. **International Zoo Yearbook**, [S.l.], v. 40, p. 174-196, 2006.

GALVANI, A. The challenge of the food sufficiency through salt tolerant crops. **Reviews in Environmental Science and Biotechnology**, [S.l.], v. 6, p. 3-16, 2007.

GOMES, M. et al. Development of in vitro matured, in vitro fertilized domestic cat embryos following cryopreservation, culture and transfer. **Theriogenology**, [S.l.], v. 60, n. 2, p. 239-251, 2003.

HEWITT, D.A. et al. Cryopreservation of epididymal dog sperm. **Animal Reproduction Science**, [S.l.], v. 67, p.101-111, 2001.

HICKMAN JR, C.P. et al. **Princípios integrados de zoologia**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2004. 846 p.

HIEMSTRA, S.J. et al. The potential of cryopreservation and reproductive technologies for animal genetic resources conservation strategies. **The role of biotechnology**, [S.l.], p.5-7, 2005.

HOFFMEISTER, T.S. et al. Ecological and Evolutionary Consequences of Biological Invasion and Habitat Fragmentation. **Ecosystems**, v.8, p.657-667, 2005.

IUCN. **2006 IUCN red list of threatened species**. Disponível em: <<http://www.redlist.org>>. Acesso em: 28 abr. 2006.

KIKUCHI, K. et al. Cryopreservation and ensuing in vitro fertilization ability of boar spermatozoa from epididymides stored at 4 °C. **Theriogenology**, [S.l.], v. 50, p. 615-623, 1998.

KISHIKAWA, H. et al. Fertility of mouse spermatozoa retrieved from cadavers and maintained at 4 degrees °C. **Journal of Reproduction & Fertility**, [S.l.], v. 116, n. 2, p. 217-222, 1999.

KOLBE, T.; HOLTZ, W. Intracytoplasmic injection (ICSI) of in vivo or in vitro matured oocytes with fresh ejaculated or frozen-thawed epididymal spermatozoa and additional calcium-ionophore activation in the pig. **Theriogenology**, [S.l.], v. 52, p. 671-682, 1999.

LOSKUTOFF, N.M. Biology, Technology and Strategy of Genetic Resource Banking in Conservation Programs for Wildlife. **Gametes: Development and Function**, [S.l.], p. 275-286, 1998.

MACLELLAN, L.J. et al. Pregnancies from vitrified equine oocytes collected from super-stimulated and non-stimulated mares. **Theriogenology**, [S.l.], v. 58, p. 911-919, 2002.

MARTINS, C.F. et al. Cryopreservation of epididymal bovine spermatozoa from dead animals and its uses in vitro embryo production. **Animal Reproduction Science**, [S.l.], v. 101, p. 326-331, 2007.

MARTINEZ-PASTOR, F. et al. Decay of sperm obtained from epididymes of wild ruminants depending on postmortem time. **Theriogenology**, [S.l.], v. 60, p. 24-40, 2005a.

MARTINEZ-PASTOR, F. et al. Comparison of two methods obtaining spermatozoa from the cauda epididymis of Iberian red deer. **Theriogenology**, [S.l.], v. 65, p. 471-485, 2005b.

MARTINEZ-PASTOR, F. et al. Post mortem time and season alter subpopulation characteristics of Iberian red deer epididymal sperm. **Theriogenology**, [S.l.], v. 64, p. 958-974, 2005c.

MMA. **Lista Nacional das Espécies da Fauna Brasileira Ameaçadas de Extinção**. Disponível em: <<http://www.mma.gov.br/port/sbf/fauna/index.cfm>>. Acesso em: 05 maio 2006.

NAKAGATA, N. Cryopreservation of unfertilized rat oocytes by ultrarapid freezing. *Jikken Dobutsu*, [S.l.], v. 41, p. 443-447, 1992.

NIJMAN, V. In-Situ and Ex-Situ status of the Javan Gibbon and the role of zoos in conservation of the species. **Contribution to Zoology**, [S.l.], v. 75, n.3-4, 2006.

OATES, R.D. et al. Efficacy of intracytoplasmic sperm injection using intentionally cryopreserved epididymal spermatozoa. **Human Reproduction**, [S.l.], v. 11, p. 133-138, 1996.

OTOI, T. et al. A frozen-thawed in vitro matured bovine oocyte derived calf with normal growth and fertility. **Journal of Veterinary and Medical Science**, [S.l.], v. 58, p. 811-813, 1996.

PIMENTEL, D. et al. Ecology of Increasing Diseases: Population Growth and Environmental Degradation. **Human Ecology**, [S.l.], v. 35, p. 653-668, 2007.

PRIMACK, R. B.; RODRIGUES, E. **Biologia da conservação**. Londrina: Planta, 2001. 327p.

PUKAZHENTHI, B. et al. Applications of emerging technologies to study and conservation of threatened and endangered species. **Reproduction, Fertility and Development**, [S.l.], v. 18, p. 77-90, 2006.

PURVIS, A. et al. Predicting extinction risk in declining species. **Proceedings of The Royal Society Biological Sciences**, [S.l.], v. 267, p. 1947-1952, 2000.

RYDER, O. A. Cloning advances and challenges for conservation. **Trends in biotechnology**, [S.l.], v. 20, n. 6, p.231-232, 2002.

SANKAI, T. et al. Short-term nonfrozen storage of mouse epididymal spermatozoa. **Theriogenology**, [S.l.], v. 55, p.1759-1768, 2000.

SANTOS, I.R.I. Criopreservação: Potencial e perspectivas para a conservação de germoplasma vegetal. **Revista Brasileira de Fisiologia Vegetal**, [S.l.], v. 12, ed. especial, p. 70-84, 2000.

SARAGUSTY, J. et al. Post-mortem semen cryopreservation and characterization in two different endangered gazelle species (*Gazella gazella* and *Gazella dorcas*) and one subspecies (*Gazella gazelle acaiae*). **Theriogenology**, [S.l.], v. 66. p. 774-784, 2006.

SHAFFER, M.L. 1981. Minimum population sizes for species conservation. **Bioscience**, [S.l.], v. 31, n. 2, p.131-134.

SOULÉ M. E. **Conservation biology: the science of scarcity and diversity**. Sunderland: Sinauer Associates, 1986. 584 p.

STACHECKI, J.J. et al. Fetal development of mouse oocytes and zygotes cryopreserved in a nonconventional freezing medium. **Cryobiology**, [S.l.], v. 44, p. 5-13, 2002.

STACHECKI, J.J.; COHEN, J. An overview of oocyte cryopreservation. **Reproductive Biomedicine Online**, [S.l.], v. 9, p. 152-163, 2004.

TILMAN, D. et al. Forecasting agriculturally driven global environmental change. **Science**, [S.l.], v. 292, p. 281-284, 2001.

TROUNSON, A. et al. Manipulation of development: opportunités for animal breeding. **Gametes: development and function**, [S.l.], p. 485-498, 1998.

WILDT, D.E. et al. Genome Resource Banks. **BioScience**, [S.l.], v. 47, n. 10, p. 689-698, 1997.

WILSON, E. O. **Biodiversidade**. Rio de Janeiro: Nova Fronteira, 1997. 657 p.

ZILLER, S. R.; ROSA, F. L. O. Perda de biodiversidade em áreas protegidas pela invasão de espécies exóticas. In: SIMPÓSIO DE ÁREAS PROTEGIDAS - PESQUISA E DESENVOLVIMENTO ECONÔMICO, 1., 2001. **Anais**. Pelotas: [s.n.], 2001. p. 229-233.